# 基于网络药理学的当归抗碳离子辐射机制研究*


蒲 丽[1,3]，王璐瑶[4]，辛志君[1,2]，曲 颖[1,2]，王 洁[1,2]，李雪虎[1,2]，吴庆丰[1,2]，王弋博[3]，周利斌[1,2,#]，王转子[1,2,#]

[1](中国科学院近代物理研究所，甘肃兰州 730000)

[2](中国科学院大学，北京 100049)

[3](天水师范学院生物工程与技术学院，甘肃天水 741000)

[4](山西医科大学第一临床医学院，山西晋中 030607)



**摘要：**

**[目的]**基于网络药理学技术探讨当归抗碳离子辐射的分子机制。

**[方法]**通过相关数据库获得当归活性成分及其抗碳离子辐射靶点；构建靶点生物网络，对靶点进行生物信息学分析，用分子对接技术验证网络药理学结果。

**[结果]**当归 9 种活性成分通过 98 个靶点参与 PI3K-Akt、MAPK 等信号通路，调节 DNA 结合、激酶结合等分子功能，以及 DNA 损伤反应等过程；分子对接验证了网络药理学结果的可靠性。

**[局限]**对网络药理学结果只进行了分子对接验证。

**[结论]**当归主要通过调节炎症反应、免疫反应、损伤修复反应等过程发挥抗碳离子辐射作用。



**关键词：**碳离子辐射；当归；网络药理学；分子对接

**分类号：**Q691


# Study on the mechanism for Danggui anti-carbon ion radiation based on network pharmacology


Pu Li[1, 3], Wang Luyao[4], Xin Zhijun[1, 2], Qu Ying[1, 2], Wang Jie[1, 2], Li Xuehu[1, 2], Wu Qingfeng[1, 2], Wang Yibo[3], Zhou Libin[1, 2, #], Wang Zhuanzi[1, 2, #]

[1]（Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Gansu Lanzhou 730000, China）

[2]（University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China）

[3]（Biological Engineering and Technology College, Tianshui Normal University, Gansu Tianshui 741000, China）

[4]（The First Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Shanxi Jinzhong, 030607, China)



Abstract:

[Objective] Network pharmacology technology was used to explore the mechanism of Danggui anti-carbon radiation.

[Methods] Danggui active ingredients and Targets of Danggui anti-carbon ion radiation were obtained through related databases. Target biological networks were constructed, bioinformatics analysis of targets were conducted. Molecular docking was performed to verify the results of network pharmacology.

[Results] Nine active ingredients of Danggui participate in signaling pathways such as PI3K-AKT and MAPK through ninety-eight targets, regulate molecular functions such as DNA binding, kinase binding, and DNA damage response and other processes. Molecular docking verifies the reliability of network pharmacological results.

[Limitations] The results of network pharmacology were only verified by molecular docking



*本文系核能开发科研项目“核辐射作物品种改良与害虫防控”、国家自然科学基金项目 (U2032139) 和道地药材生态种植及质量保障项目(国中医药科技〔2020〕153 号) 的研究成果之一。



#周利斌，E-mail：libinzhou@impcas.ac.cn

[Conclusions] Danggui anti-carbon ion radiation was mainly through regulating inflammatory reaction, immune response, damage repair reaction.
Keywords: Carbon ion radiation; Danggui; Network pharmacology; Molecular docking



# 1 引言

重离子独特的倒转剂量深度分布和高的相对生物学效应等特性使其在癌症放射治疗领域受到越来越多的关注。据粒子治疗合作组的统计数据，碳离子是放射治疗应用最广泛的重离子[1]。与光子射线一样，碳离子射线也会导致放射治疗靶区周边和入射路径上正常细胞损伤。因此，健康组织的辐射损伤仍是碳离子放疗过程中需要考量的因素。碳离子也是空间辐射的一部分，传能线密度高、组织穿透能力强以及相对生物学效应高等特性使之成为威胁宇航员健康安全的重要因素[2]。无论是改善碳离子放疗病人生活质量的需求，还是载人航天的需求，都需要开发有效的碳离子辐射防护药物，以预防和减轻碳离子辐射的有害影响。

辐射防护剂可预防或减轻正常组织细胞的辐射损伤。目前，氨磷汀是唯一被美国食品和药物管理局批准用于临床应用，但其疗效有限，且副作用严重，临床应用受到了限制[3]。受辐射防护需求的驱动，人们正在不断努力开发具有临床应用前景的辐射防护剂。中草药因其资源丰富、毒副作用小，并含大量具有抗氧化、抗炎症以及免疫刺激特性的活性物质，使之成为抗辐射研究的焦点。当归是甘肃道地药材，有抗炎、抗氧化、调节免疫等功效，有明显的抗辐射作用；当归具有医药和食品的同源性，可作为日常膳食补充剂，其化学成分主要包括挥发油(含苯酞内酯类)、有机酸类、多糖、氨基酸和核苷类等成分。当归多糖可减轻电离辐射对机体的毒副作用，增强机体免疫监视能力[4]。当归提取物可清除辐射产生的自由基，对电离辐射损伤小鼠具有一定的防护作用[5]。当归提取物通过减轻辐射引起的肺损伤发挥抗辐射作用，对 1979 年至 2018 年治疗放射性肺损伤相关中药应用频次量化分析结果表明，当归的应用频次为 559 次，位居第 3 [6]，但当归临床应用是根据实践经验，其发挥抗辐射作用的活性成分和分子机制尚不明确。

网络药理学是一种利用大数据分析及人工智能来进行药物研究的新模式，主要从复杂生物网络角度，对疾病机制及药物作用机制开展系统性研究。网络药理学可识别中药中的活性成分以及与某些疾病治疗相关的生物靶点和信号通路[7]。基于网络药理学，研究人员可以从系统生物学的角度分析中草药-活性成分-靶点-信号通路-疾病相互作用网络，这将有助于了解中草药对疾病治疗的影响。本研究基于网络药理学方法探讨当归抗碳离子辐射的活性成分及可能的分子机制，为后续研究补充新的理论基础和方向，也为当归临床推广应用提供进一步理论依据。

# 2 资料与方法

## 2.1 当归活性成分的筛选及作用靶点的获取

以“Danggui (当归)”为检索词，检索中药系统药理学数据库与分析平台（Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, https://tcmsp-e.com/tcmsp.php）[8]，选择口服生物利用度(Oral Bioavailability, OB)≥30%且类药性(Drug-Likeness, DL)≥0.18 的活性成分，并根据相关文献补充未通过筛选的成分[9-11]。利用有机小分子生物活性数据库（PubChem, https://pubchem.ncbi.nlm. nih.gov/）[12] 和 Swiss Target Prediction 平台（http://www.swiss target prediction.ch/）[13]预测活性成分的潜在靶点。

## 2.2 当归干预碳离子辐射潜在靶点的获取及网络模型的构建

以“carbon ion radiation”为关键词在人类基因数据库 GeneCards（https://www.genecards. Org）[14]中检索碳离子辐射相关靶点，删除重复项后得到碳离子辐射靶点。将当归活性成分的潜在靶点与碳离子辐射靶点进行映射，获得当归抗碳离子辐射的潜在靶点。

用 Cytoscape 3.9.1 软件，构建中草药-活性成分-潜在靶点网络，用 Network Analyzer 对网络图进行拓扑分析。利用蛋白质相互作用分析平台（STRING，https://string-db.org/）构建潜在靶点的蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络，并用 Cytoscape 3.9.1 软件进行可视化，根据度值(degree）获取核心靶点。

### 2.3 基因本体论（gene ontology，GO）与京都基因和基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）富集分析

将潜在靶点录入 Metascape 数据库[15]，Min Overlap 设为 3，P Value Cutoff 设为 0.01，Min Enrichment 设为 1.5，进行 GO 功能和 KEGG 富集分析。$p<0.01$ 表示差异具有统计学意义。并将 KEGG 通路信息、相应靶点及活性成分导入 Cytoscape 3.9.1 软件，构建活性成分-潜在靶点-通路和通路-通路网络，用 Network Analyzer 对网络图进行拓扑分析。

### 2.4 分子对接

分子对接是研究受体与配体分子间相互作用并预测其结合模式和亲和力的理论模拟方法，可用于验证网络药理学获得的活性成分是否与靶点结合。选择核心靶点蛋白与其对应的当归活性成分进行分子对接。从 PubChem 数据库和 Chem3D 20.0 中获得当归活性成分的 3D 结构，从 RCSB 数据库中获得核心靶点蛋白的晶体结构。用 Pymol 移除靶蛋白中的配体和非蛋白分子，用 Ledock 软件进行加氢处理后，与活性成分 3D 结构进行分子对接，获得活性成分与核心靶点的结合自由能。应用 PLIP 数据库(https://plip-tool.biotec.tu- dresden.de/)[16]确定成分与其靶点蛋白间的相互作用。

## 3 结果

### 3.1 当归抗碳离子辐射作用的活性成分及潜在靶点获取结果

在 TCMSP 数据库中筛选出 2 个活性成分谷甾醇和豆甾醇。由于数据库未考虑成分的相对含量等因素，以 OB≥30 且 DL≥0.18 为条件筛选的活性成分并不完全。本研究除了以 OB≥30 且 DL≥0.18 为条件筛选当归的有效成分外，还根据相关文献补充了以下 7 个活性成分[9-11]（表 1）。藁本内酯是当归的主要活性成分之一，其生物利用度较高，穿透力强，能有效改善血脑屏障通透性[9]。当归的活性与阿魏酸含量有关，阿魏酸被推荐用于评价当归及其产品质量的标记化合物[10]。当归多糖是当归的主要活性成分之一，其中酸性多糖组分（主要由半乳糖醛酸、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖和甘露糖组成）能保护小鼠白细胞和淋巴细胞免受辐射损伤，对急性辐射损伤小鼠具有一定的防护作用[11]。通过 Swiss Target Prediction 平台得到当归 9 个活性成分的作用靶点 190 个。

在 GeneCards 数据库检索“carbon ion radiation”，得到 Relevance score≥3.98 的碳离子辐射相关靶点 1257 个。当归活性成分作用靶点并不完全是碳离子辐射靶点，需将当归活性成分靶点与碳离子辐射靶点进行映射/取交集，最终获得 98 个共同靶点，为当归抗碳离子辐射的潜在靶点（表 1）。表 1 显示，每种活性成分对应多个靶点，每个靶点也可对应不同活性成分，即活性成分与靶点之间存在“一对多”和“多对一”的关系，体现出中药多成分、多靶点的特点。

表 1. 当归活性成分信息

| 有机小分子生物活性系统编号 | 活性成分 | 分子结构 | 潜在靶点数 |
| --- | --- | --- | --- |
| 1548883 | 阿魏酸 (CIS-Ferulic acid) | | 48(ABCB1\ACE\AHR\ALOX15\ALOX5\APP\BACE1\CA12\CA2\CA4\CA6\CA9\CCND1\CDK4\CTNNB1\CYP1A1\CYP1A2\CYP1B1\EGFR\ESR2\F2\F3\FYN\KDM4C\LCK\MAOA\MAOB\MAPK8\MET\MME\MMP1\MMP2\MMP9\NFE2L2\NOS2\PARP1\PRKCE\PTGS1\PTGS2\PTPN1\RELA\REN\SLC16A1\STAT3\TLR4\TLR9\TOP2A\TTR) |
| 5877292 | 藁本内酯 (Z-Ligustilide) | | 28(CA2\CEL\CREBBP\CTSB\CTSK\CTSL\CYP11B1\CYP11B2\CYP1A2\CYP2A6\F2\FLT3\GABRA2\GABRB3\GABRG2\ICAM1\KCNK2\MAOA\MAPK14\P2RX7\PARP1\PDGFRB\PIK3R1\PRKDC\PTGS1\SELE\SLC6A3\VCAM1) |
| 222284 | 谷甾醇 (Beta-Sitosterol) | | 21(ACHE\AR\BCHE\CYP17A1\CYP19A1\CYP2C19\ESR1\ESR2\G6PD\GLRA1\HMGCR\NOS2\NR1H2\POLB\PPARA\PPARG\PTPN1\PTPN6\SLC6A2\SLC6A4\VDR) |
| 5280794 | 豆甾醇 (Stigmasterol) | | 21(ACHE\AR\BCHE\CYP17A1\CYP19A1\CYP2C19\ESR1\ESR2\G6PD\GLRA1\HMGCR\NOS2\NR1H2\POLB\PPARA\PPARG\PTPN1\PTPN6\SLC6A2\SLC6A4\VDR) |
| 25310 | 鼠李糖 (L-Rhamnose) | | 7(CDK1\FGF1\FGF2\FOLH1\HSP90AA1\PSEN1\VEGFA) |
| 84740 | 半乳糖醛酸 (DL-Galacturonic acid) | | 6(CHRNA7\EGLN1\G6PD\HAO1\HMGCR\PPARA) |
| 6036 | 半乳糖 (D-Galactose) | | 6(CDK1\FGF1\FGF2\HSP90AA1\PSEN1\VEGFA) |
| 18950 | 甘露糖 (D-Mannose) | | 6(CDK1\FGF1\FGF2\HSP90AA1\PSEN1\VEGFA) |
| 854 | 阿拉伯糖 (DL-Arabinose) | | 3(CHRNA7\EGLN1\HMGCR) |

3.2 当归抗碳离子辐射作用的网络模型构建

**（1）中草药-活性成分-潜在靶点网络构建**

运用Cytoscape 软件对上述98个潜在靶点构建中草药-活性成分-潜在靶点网络，共包括108个节点，155条边，度（degree）均值为2.870（图1）。节点指中

草药、活性成分和潜在靶点，边指中草药-活性成分-潜在靶点之间的作用关系，度值表示活性成分与中草药及潜在靶点的关联数目。该网络进一步直观地表明了中药多成分、多靶点的特点，在此网络中，活性成分阿魏酸的度值最大，其次是藁本内酯，豆甾醇和谷甾醇度值相同(图 1，表 1)；潜在靶点 HMGCR 的节点度值最大，其次是 ESR2、G6PD 等（图 1）。HMGCR 编码一种 HMG-CoA 还原酶，是正常细胞功能所必需的非甾醇类异戊二烯生物合成中的速率限制酶。ESR2（Erb）编码雌激素受体家族和核受体转录因子超家族的成员，调节许多关键通路中的基因表达，如 PI3K、AKT 等，在哺乳动物细胞辐射应答中起重要作用[17]。G6PD 编码葡萄糖-6-磷酸脱氢酶，主要功能是产生还原型辅酶Ⅱ。

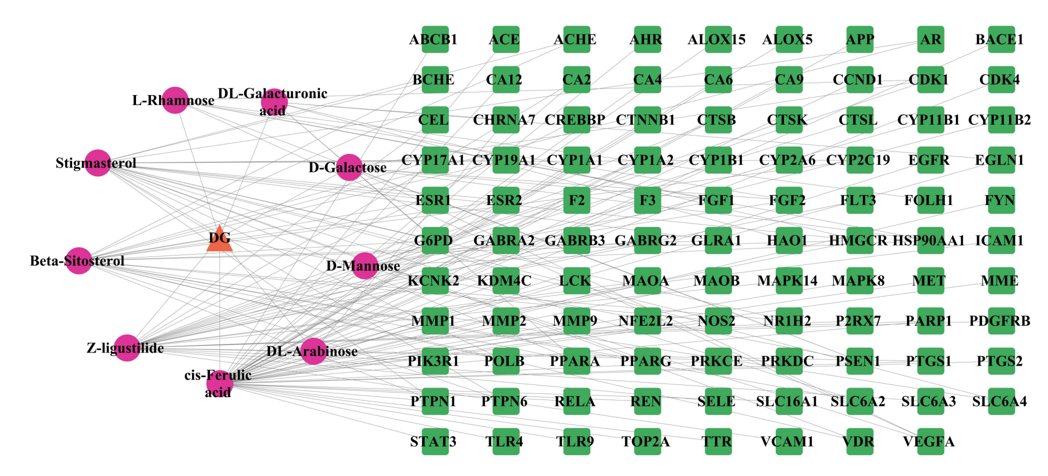


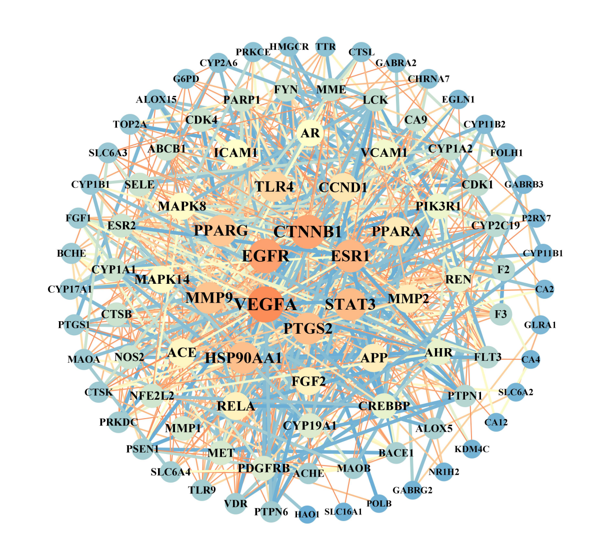

图 1 中草药-活性成分-潜在靶点网络

三角形代表中草药当归（DG），圆形代表活性成分，矩形代表潜在靶点

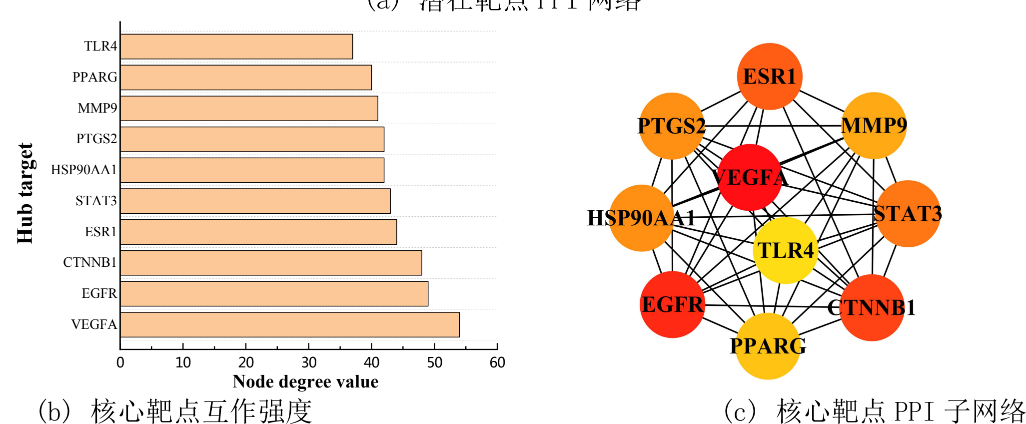
**（2）构建潜在靶点 PPI 网络**

将上述 98 个潜在靶点导入 STRING 平台，隐藏 3 个游离节点，再通过 Cytoscape 可视化，构建当归抗碳离子辐射潜在靶点的蛋白质-蛋白质互作（protein-protein interaction，PPI）网络（图 2a），该网络共有 95 个相互作用节点，809 条边，度值均值为 17.032。图 2a 中节点代表潜在靶点，根据度值的不同分为不同的颜色和大小，其中颜色越深、节点越大，表明靶点在网络中越关键；边表示各潜在靶点之间的相互关系，边越粗表明靶点之间的连接关系越紧密，线条数量体现潜在靶点之间的关联程度。

用 Cytoscape 中的 cytoHubba 插件获取核心靶点，将度值排名前 10 的靶点视为核心靶点（图 2b），其中，VEGFA 和 EGFR（ErbB1）[18]与组织纤维化发展有关，PPARG [19]、MMP9 [20]、PTGS2（COX2）[21]、CTNNB1 [22]与炎症反应密切相关，HSP90AA1 [23]、STAT3 [24]和 EGFR [25]可调节 DNA 损伤修复，TLR4 是一种参与免疫应答的受体，在急性炎症的调节中发挥作用，TLRs 通路的激活具有明显的辐射保护作用[26]，ESR1 抗炎、调节先天性和适应性免疫细胞信号通路[27]。创建核心靶点子网络（图 2c）。




(a) 潜在靶点 PPI 网络




(b) 核心靶点互作强度 (c) 核心靶点 PPI 子网络

图 2 当归抗碳离子辐射潜在靶点 PPI 网络

### 3.3 潜在靶点的 GO 和 KEGG 分析

将 98 个潜在靶点录入 Metascape 数据库平台，进行 GO 和 KEGG 富集分析。

GO 富集分析结果显示（$p<0.01$），98 个潜在靶点富集于 1199 个生物过程（biological processes，BP）条目、95 个细胞组分（cell composition，CC）条目和 163 个分子功能（molecular function，MF）条目。在 BP 富集分析中，潜在靶点主要涉及细胞对氮化合物的反应、外源性刺激的反应、防御反应调节、磷酸化正调节、MAPK 级联调节等多个生物过程。其中，富集于磷酸化正调节和蛋白质磷酸化正调节的核心靶点最多，有 7 个核心靶点；富集于防御反应调节、DNA 结合转录因子活性调节、细胞对生长因子刺激的反应等条目的核心靶点有 6 个；富集于 MAPK 级联调节、炎症反应调节、细胞应激反应调节等条目的核心靶点有 5 个。在 CC 富集分析中，潜在靶点主要集中在膜筏、膜微域、质膜外侧、转录调节复合体等。其中，富集于转录调节复合体和细胞质核周区的核心靶点最多，有 4 个核心靶点；富集于膜筏、膜微域、受体复合物等条目的核心靶点有 3 个。在 MF 富集分析中，潜在靶点主要涉及氧化还原酶活性、DNA 结合转录因子的结合、核受体活性、配体激活的转录因子活性等多个分子功能。其中，富集于激酶结合和染色质结合的核心靶点最多，有 5 个核心靶点；富集于 DNA 结合转录因子结合、蛋白磷酸酶结合、转录因子结合等条目的核心靶点有 4 个。按 $p$ 值从小到大可视化排名前 10 的条目（图 3）。

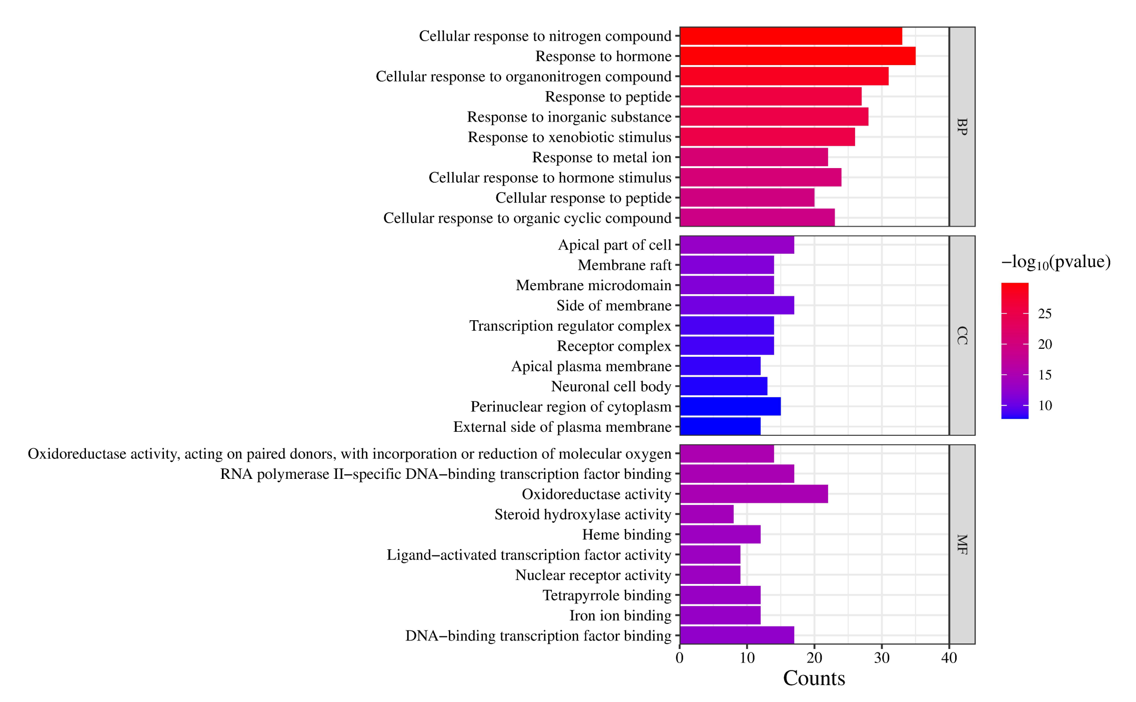


图 3 当归抗碳离子辐射潜在靶点 GO 分析

KEGG 通路富集分析结果表明，98 个潜在靶点显著富集于 154 条信号通路（$p<0.01$），包括 73 条人类疾病通路，其余通路主要涉及 17 条信号转导通路、15 条免疫系统通路、14 条内分泌系统通路、7 条神经系统通路、6 条细胞生长与死亡相关通路。按富集程度，前 20 条通路主要涉及癌症信号通路、脂质与动脉粥样硬化通路、缺氧诱导因子 1 通路、肿瘤坏死因子通路等（图 4）。其中，富集于癌症信号通路的核心靶点最多，有 9 个核心靶点富集于该通路；有 4 个核心靶点富集于 HIF-1、PI3K-Akt 等信号通路（图 5）。

信号转导相关通路、免疫相关通路以及细胞生长与死亡相关通路均与细胞辐射反应密切相关。依据 KEGG 富集结果，对这 3 类相关通路的前 10 条构建活性成分-潜在靶点-通路网络及通路-通路相互作用网络，对不足 10 条的全部纳入。在活性成分-潜在靶点-通路网络中，活性成分的度值从大到小依次是：阿魏酸、藁本内酯、鼠李糖、甘露糖、半乳糖、谷甾醇、豆甾醇、阿拉伯糖、半乳糖醛酸；潜在靶点 PIK3R1、MAPK14、RELA、MAPK8 和 EGFR 的度值较大；PI3K-Akt 信号通路的度值最大，其次是 MAPK 和 Ras 信号通路（图 5）。在通路-通路互作网络中，有 24 条通路与 PI3K-Akt 通路、FoxO 通路或 T 细胞受体通路互作，有 23 条通路与细胞衰老通路或 HIF-1 通路互作，有 22 条通路与 Toll 样受体通路、C 型凝集素受体通路、TNF 通路、辅助 T 细胞分化或 MAPK 通路互作（图 6）。

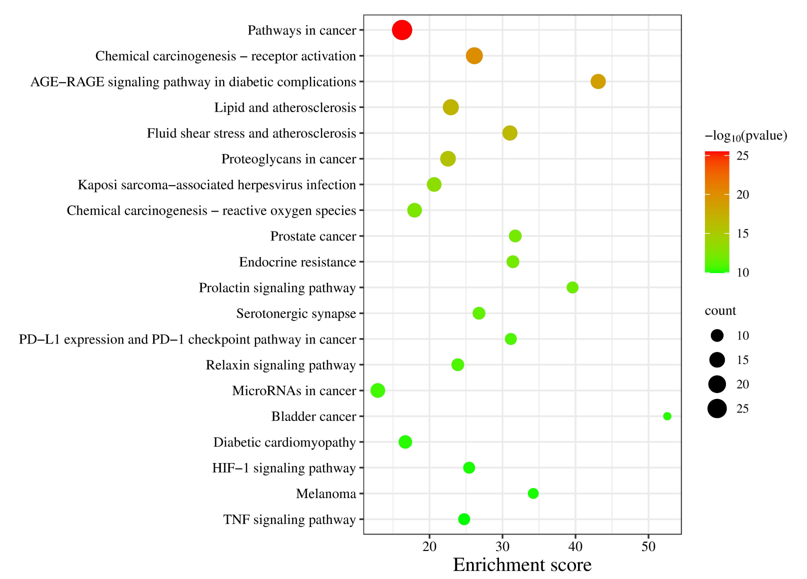



图 4 当归抗碳离子辐射潜在靶点 KEGG 通路分析

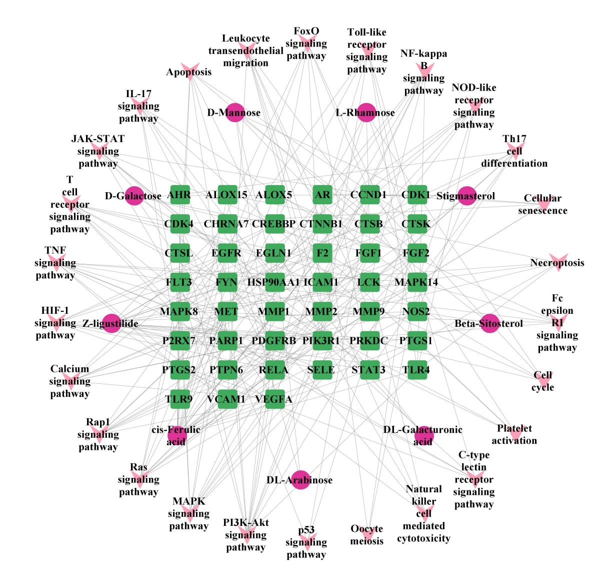



图 5 活性成分-潜在靶点-通路网络

圆形代表活性成分，矩形代表潜在靶点，箭头代表信号通路

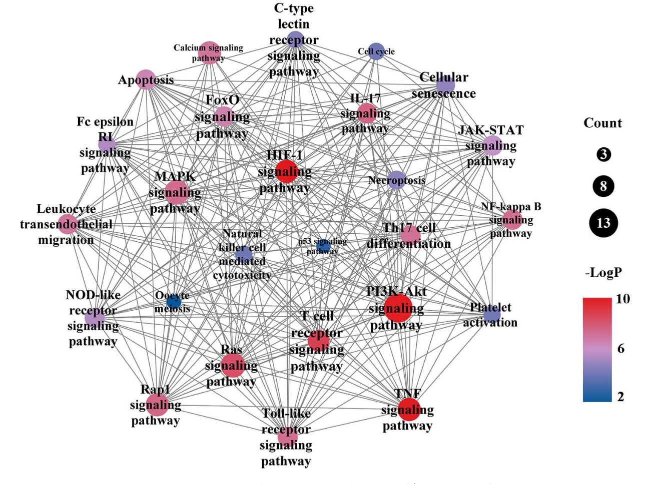



图 6 通路-通路相互作用网络

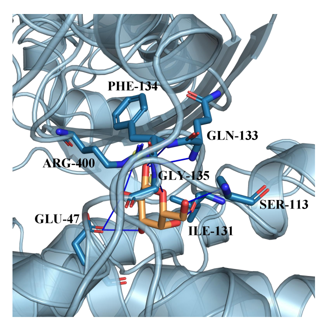
3.4 分子对接结果

结合自由能可评价受体与配体之间的结合能力，结合能小于 0 时，认为配体与受体可以自由结合，结合自由能越小，配体与受体的亲和力越强，构象越稳定。将核心靶点与其所对应的当归活性成分进行分子对接。对接结果表明，所有核心靶点均能与其对应的当归活性成分自由结合，其中，半乳糖与 HSP90AA1、豆甾醇与 PPARG、甘露糖与 HSP90AA1、阿魏酸与 MMP9、谷甾醇与 PPARG 的亲和力较高（表 2）。HSP90AA1 与 DNA 损伤修复有关[23]，PPARG [19]和 MMP9 [20]与炎症免疫调节有关。

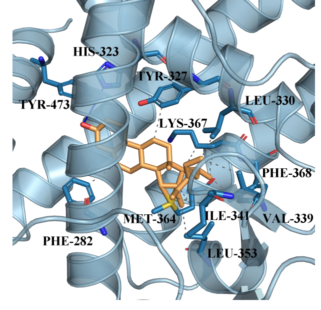
将亲和力较高的核心靶点-活性成分进行可视化（图 7）。半乳糖与 HSP90AA1 的 GLU47、SER113、ILE131、GLN133、PHE134、GLY135、ARG400 形成氢键，与 ARG400 形成盐桥（图 7a）；豆甾醇与 PPARG 的 PHE282、TYR327、LEU330、VAL339、ILE341、LEU353、MET364、LYS367、PHE368 形成疏水相互作用，与 HIS323、TYR473 形成氢键（图 7b）；甘露糖与 HSP90AA1 的 GLU47、SER113、GLN133、PHE134、GLY135、GLY137、PHE138 形成氢键（图 7c）；阿魏酸与 MMP9 的 TYR245、TYR251 形成疏水相互作用，与 HIS226、TYR245、MET247、PRO255 形成氢键（图 7d）；谷甾醇与 PPARG 的 ILE281、PHE282、ARG288、TYR327、LEU330、VAL339、LEU353、PHE363、LEU453、LEU469、TYR473 形成疏水相互作用（图 7e）。

表 2 核心靶点与相应活性成分分子对接结合能

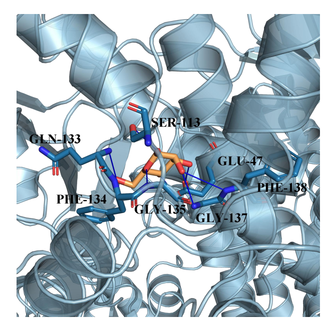
| 核心靶点 | 蛋白编号 | 活性成分 | 结合能（kcal·mol$^{-1}$） |
| --- | --- | --- | --- |
| VEGFA | 4KZN | 鼠李糖 | -3.31 |
| VEGFA | 4KZN | 甘露糖 | -3.76 |
| VEGFA | 4KZN | 半乳糖 | -3.81 |
| EGFR | 3W2S | 阿魏酸 | -4.79 |
| CTNNB1 | 7AFW | 阿魏酸 | -3.77 |
| ESR1 | 7R62 | 谷甾醇 | -4.88 |
| ESR1 | 7R62 | 豆甾醇 | -4.82 |
| STAT3 | 6NJS | 阿魏酸 | -3.1 |
| HSP90AA1 | 7KRJ | 鼠李糖 | -4.73 |
| HSP90AA1 | 7KRJ | 甘露糖 | -5.19 |
| HSP90AA1 | 7KRJ | 半乳糖 | -5.31 |
| PTGS2 | 5F19 | 阿魏酸 | -4.68 |
| MMP9 | 5I12 | 阿魏酸 | -5.13 |
| PPARG | 5GTN | 谷甾醇 | -5.12 |
| PPARG | 5GTN | 豆甾醇 | -5.27 |
| TLR4 | 2Z65 | 阿魏酸 | -3.41 |



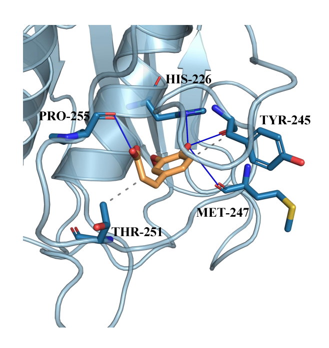
(a) 半乳糖-HSP90AA1



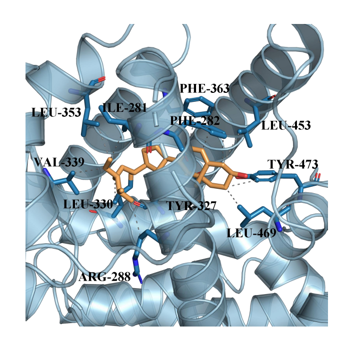
(b) 豆甾醇-PPARG



(c) 甘露糖-HSP90AA1




(d) 阿魏酸-MMP9




(e) 谷甾醇-PPARG

图 7 活性成分-核心靶点的分子对接示意图

## 4 讨论

与常规射线相比，碳离子束的传能线密度（LET）高、相对生物学效应（RBE）大，引起的损伤严重、修复效率低；由于能量沉积密集、电离径迹复杂、局部剂量较大等特性，碳离子辐射更容易诱发 DNA 团簇损伤，其损伤致密、空间结构复杂、难以修复[28, 29]。细胞在碳离子辐射损伤后会启动一系列的信号转导级联反应，导致一系列靶基因的表达改变[28, 29]，激活细胞周期检验点、触发 DNA 损伤反应（DDR）、炎症反应和免疫反应等生物过程，可能会导致细胞死亡、生物学功能改变、遗传不稳定性等生物学后果，增加基因突变和细胞癌变几率，对机体产生慢性和晚期影响。当归提取物具有抗炎、抗氧化和增强免疫作用，可减轻电离辐射损伤[4-6]。本研究通过网络药理学技术，得到 9 个当归活性成分以及 98 个当归发挥抗碳离子辐射作用的潜在靶点，这些靶点涉及蛋白激酶、转录因子、细胞因子等，参与信号级联激活、炎症反应、免疫反应、DNA 损伤修复等过程。阿魏酸和藁本内酯的潜在靶点较多（图 1）。

98 个潜在靶点参与多条与 DDR 反应、炎症反应、免疫反应、氧化应激反应相关的信号通路，主要有 MAPK、PI3K-Akt、FoxO、JAK-STAT、TNF、NF-κB 等。电离辐射刺激的多种信号转导途径是由 MAPK 超家族介导的，MAPK 信号激活可上调端粒酶活性，改变染色质分布，调节细胞周期[30]，p38MAPK 和 JNK 通路还参与免疫调节[31]。研究发现阿魏酸[32]和藁本内酯[33]通过抑制 MAPK（p38MAPK、ERK 和 JNK）和 NF-κB 信号传导发挥抗炎作用。PI3K-Akt 信号通过调节线粒体蛋白、转录因子、翻译机制和细胞周期进程参与细胞辐射反应[34]，电离辐射对 PI3K-Akt 通路有抑制作用，该通路的激活可促进辐射诱导的 DNA 双链断裂（DSB）修复，并参与调节辐照细胞周期和凋亡[35, 36]。当归多糖减少细胞凋亡以及阿魏酸保护细胞免受辐射诱导的氧化应激均与 PI3K-Akt 通路有关[32]。FOXO 通路调控细胞周期、受损 DNA 的修复和细胞凋亡，并通过调节抗氧化酶来抑制氧化应激，在维持氧化还原平衡方面发挥着关键作用[37]。JAK2/STAT3 信号通过抑制细胞凋亡和增强克隆形成潜能，在抗辐射方面发挥重要作用[38]。当归可能通过这些通路参与调节免疫、消除炎症以及减轻氧化损伤等过程发挥抗碳离子辐射作用。潜在靶点还显著富集于细胞存活相关信号通路。藁本内酯以剂量依赖性方式上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 与促凋亡蛋白 Bax 的比率、下调 caspase 3 的表达来发挥抗凋亡活性[39]，阿魏酸通过介导 Bcl-2、Bax 或 JNK 信号发挥抗凋亡作用[32]，表明当归可能通过其活性成分参与调节细胞生长与死亡信号通路，促进辐照细胞的生长与存活。

潜在靶点参与调控的各条信号通路之间存在着相互作用关系（图 6）。PI3K-Akt、FoxO 和 T 细胞受体通路与各通路的互作最强，为通路网络中的枢纽节点。PI3K-Akt 通路富集到的潜在靶点最多，提示 PI3K-Akt 通路在当归抗碳离子辐

射中发挥枢纽作用。阿魏酸和藁本内酯是当归调控信号通路的主要成分（图 5）。

潜在靶点蛋白之间存在着相互作用关系，VEGFA、EGFR 等 10 个靶点为 PPI 网络的核心靶点（图 2）。分子对接结果显示这些核心靶点均能与其相应的活性成分自由结合（表 2）。

鼠李糖、甘露糖和半乳糖与核心靶点 VEGFA 和 HSP90AA1 相互作用（表 2）。VEGFA 是炎症反应和 MAPK、PI3K-Akt 等信号通路激活的关键靶点。分子伴侣 HSP90AA1 对一些 DNA 损伤反应（DDR）蛋白的稳定性起调节作用，抑制 HSP90AA1 ATP 酶活性可导致这些蛋白降解，从而削弱 DDR 信号，减缓 DSB 修复[23]。甘露糖具有减轻炎症、调节免疫、抑制氧化反应等功能[40]，以剂量依赖的方式减轻脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤[41]。鼠李糖、甘露糖和半乳糖可能通过核心靶点 VEGFA 和 HSP90AA1 参与 MAPK、PI3K-Akt、坏死等通路多条信号通路，调节炎症和免疫反应，促进辐射诱导的 DSB 修复。

谷甾醇和豆甾醇与核心靶点 PPARG 和 ESR1 相互作用（表 2）。核受体 PPARG 是配体激活的转录因子，通过下调促炎基因表达和炎症细胞功能发挥抗炎作用[41]。豆甾醇通过激活 PPARG 上调肠粘膜免疫反应，恢复辅助 T 细胞（Th17）和调节性 T 细胞（Treg）之间的平衡，显著降低炎症反应[19]。ESR1 敲低可显著增强电离辐射诱导的铁死亡[42]。谷甾醇和豆甾醇可能通过作用于 PPARG 和 ESR1 靶点抑制炎症因子分泌、调节免疫反应、促进辐照细胞存活。

阿魏酸与核心靶点 EGFR、CTNNB1、STAT3、PTGS2、MMP9 和 TLR4 相互作用（表 2）。EGFR 通过 MAPK 信号调节辐射诱导的 DSB NHEJ 修复[25]，STAT3 及其转录产物可激活 DNA 损伤修复[24]，阿魏酸具有抗纤维化作用[32]、减轻氧化应激和激活 DNA 非同源末端连接（NHEJ）修复途径[43]，这些作用可能与 EGFR 和 STAT3 靶点有关。PTGS2 基因表达可促进炎症反应；炎症期间 MMP9 的释放可使紧密连接受损和组织结构整性丧失，阿魏酸通过抑制 PTGS2 表达减轻辐射引起的全身炎症[21]，通过翻译后机制抑制辐射诱导的小鼠皮肤细胞 MMP9 活性，保护皮肤免受辐射损伤[44]。重离子辐射暴露后结肠炎相关癌症发生率升高与 CTNNB1 激活有关[22]，CTNNB1 信号通路激活可抑制辐照细胞凋亡和皮肤损伤[45]。缺乏 TLR4 的小鼠对辐射更敏感性，用脂多糖激活 TLR4 信号可显著增加辐照小鼠存活率[46]，推测阿魏酸可能通过调节 CTNNB1 和 TLR4 信号参与 PI3K-Akt、NF-κB、Toll 样受体、坏死等通路，发挥炎症和免疫调节作用，增加细胞辐射抗性。

本文还比较分析了当归抗碳离子辐射与抗 X 射线辐射的潜在靶点及主要成分，结果显示:当归抗两种类型电离辐射的潜在靶点以及靶点参与的 GO 功能和 KEGG 信号通路存在一定差异，相对而言，前 20 个条目差异较大（Supplement 1），但核心靶点基本相同（Supplement 1）；当归抗两种辐射作用的主要活性成分基本相同（Supplement 2）。进一步分析了碳离子与 X 射线辐射相关靶点，结果显示：两种射线的辐射靶点以及靶点参与的 GO 功能和 KEGG 信号通路存在明显差异（Supplement 3），碳离子辐射靶点涉及更多的 GO 功能和 KEGG 信号通路，（Supplement 3）。分析结果表明，当归对碳离子辐射和 X 射线辐射均具有一定的防护作用，但相关机理不尽相同，可能与两种射线辐射损伤机理不同有关。

## 5 总结与展望

综上所述，当归主要通过阿魏酸、藁本内酯、谷甾醇和豆甾醇等活性成分作用于 VEGFA、EGFR 等靶点，调控 PI3K-Akt、MAPK、IL-17、NF-κB 等多条炎症和免疫相关信号通路，发挥抗碳离子辐射作用，分子对接结果验证了网络药理学分析结果的可靠性。研究结果揭示了当归具有多成分、多靶点、多通路的作用机制，

为后续当归抗碳离子辐射研究奠定了基础，也为当归在抗辐射方面的进一步开发利用补充了新的依据。未来研究拟从以下 2 方面开展：（1）研究当归抗碳离子辐射效应，并验证其抗辐射作用靶点和信号通路，（2）研究当归主要活性成分对碳离子辐射的防护效应及相关机理。

参考文献：


[1] LUO C, LI W, YANG B, *et al*. Induced radiation studies and personnel dose assessment in a carbon ion therapy facility [J]. Applied Radiation and Isotopes, 2022, 188: 110350. doi: 10.1016/j.apradiso.2022.110350.

[2] SIHVER L, MORTAZAVI S M J. Biological protection in deep space missions [J]. Journal of Biomedical Physics and Engineering, 2021, 11(6): 663. doi: 10.31661/jbpe.v0i0.1193.

[3] ZOIS C E, GIATROMANOLAKI A, SIVRIDIS E, *et al*. Narrow amifostine dose windows define radioprotection outcome, following fractionated whole-body irradiation of mice [J]. In Vivo, 2011, 25(2): 191.

[4] 洪燕, 刘君炎, 王红玲, 等. 当归多糖对放射损伤小鼠细胞免疫的调节作用 [J]. 武汉大学学报(医学版), 2001, 22(1): 26.(HONG Yan, LIU Junyan, WANG Hongling, *et al*.The Effect of Angelica Polysaccharide on the Cell Immune Function of Radiated Mice[J]. Medical Journal of Wuhan University, 2001, 22(1): 26)

[5] 易辉燕, 李敏, 罗芳芳, 等. 当归提取物抗电离辐射损伤在小鼠脾脏组织中的比较蛋白质组学研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(09): 899. (YI Huiyan, LI Min, LUO Fangfang, *et al*. Comparative proteomics study of angelica extracts on mouse spleen tissues damaged by ionizing radiation [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2019, 39 (09): 899.).doi: 10.13286/j.cnki.chinhosppharmacyj.2019.09.04
(. doi: 10.13286/j.cnki.chinhosppharmacyj.2019.09.04)

[6] 高炳宗, 蔡文杰, 陈雪云, 等. 1979—2018 年治疗放射性肺损伤相关中药应用频次及其功效分类的信息定量分析[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12(09): 76. (GAO Bingzong, CAI Wenjie, CHEN Xueyun, *et al*. Quantitative analysis of information on application frequency and efficacy classification of traditional Chinese medicine related to the treatment of radiation lung injury from 1979 to 2018 [J]. Chinese Journal of Clinical Rational Drug Use, 2019, 12(09): 76.).doi: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2019.09.035.
(doi: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2019.09.035)

[7] ZHANG R Z, ZHU X, BAI H, *et al*. Network pharmacology databases for traditional chinese medicine: Review and assessment [J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10: 123. doi: 10.3389/fphar.2019.00123.

[8] RU J, LI P, WANG J, *et al*. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6: 13. doi: 10.1186/1758-2946-6-13.

[9] 何树苗, 陈元堃, 曾奥, 等.藁本内酯药理作用及机制研究进展 [J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(02): 152.(HE Shumiao, CHEN Yuankun, ZENG Ao, *et al*. Research progress of ligustilide pharmacological action and mechanism [J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2021, 37(02): 152.). doi: 10.16809/j.cnki.2096-3653.2020081202.
(doi: 10.16809/j.cnki.2096-3653.2020081202)

[10] 吕成龙，李会会，史永洁，等．中药当归现代研究进展及其质量标志物的预测分析［J］．中国中药杂志，2022，47(19)：5140.(LYU Chenlong，LI Huihui，SHI Yongjie，*et al*. Research progress of Angelicae Sinensis Radix and predictive analysis on its quality markers [J]. China Journal of Chinese Materia Medica，2022，47(19)：5140.)．doi：10.19540/j.cnki.cjcmm.20220225.203.(doi：10.19540/j.cnki.cjcmm.20220225.203)

[11] SUN Y，TANG J，GU X，*et al*. Water-soluble polysaccharides from Angelica sinensis (Oliv.) Diels: preparation，characterization and bioactivity [J]．International Journal of Biological Macromolecules，2005，36(5)：283．doi：10.1016/j.ijbiomac.2005.07.005.

[12] KIM S，CHEN J，CHENG T，*et al*. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces [J]．Nucleic Acids Research，2021，49(D1)：D1388．doi：org/10.1093/nar/gkaa971

[13] DAINA A，MICHIELIN O，ZOETE V. Swiss Target Prediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. Nucleic Acids Research，2019，47(W1)：W357．doi：10.1093/nar/gkz382

[14] STELZER G，ROSEN N，PLASCHKES I，*et al*. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses [J]．Current Protocols in Bioinformatics，2016，54：1.30.1．doi：10.1002/cpbi.5

[15] ZHOU Y，ZHOU B，PACHE L，*et al*. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]．Nature Communications，2019，10(1)：1523．doi：10.1038/s41467-019-09234-6.

[16] ADASME M F，LINNEMANN K L，BOLZ S N，*et al*. PLIP 2021: expanding the scope of the protein-ligand interaction profiler to DNA and RNA [J]．Nucleic Acids Research，2021，49(W1)：W530．doi：10.1093/nar/gkab294

[17] DEY P，BARROS R P，WARNER M，*et al*. Insight into the mechanisms of action of estrogen receptor β in the breast，prostate，colon，and CNS [J]．Journal of Molecular Endocrinology，2013，51(3)：T61．doi:10.1530/JME-13-0150

[18] SCHRAMM F，SCHAEFER L，WYGRECKA M. EGFR Signaling in Lung Fibrosis [J]．Cells，2022，11(6)：986．doi：10.3390/cells11060986

[19] WEN S，HE L，ZHONG Z，*et al*. Stigmasterol restores the balance of treg/th17 cells by activating the butyrate-PPARγ axis in colitis [J]．Frontiers in Immunology，2021，12：741934．doi：10.3389/fimmu.2021.741934

[20] 王海波，俞为荣．MMP-2/MMP-9在炎症中的研究进展［J］．医学综述，2014，20(17)：3120.(WANG Haibo，YU Weirong. Advances in the Research of MMP-2 /MMP-9 in Inflammation [J]. Medical Recapitulate，2014，20(17)：3120)

[21] DAS U，MANNA K，SINHA M，*et al*. Role of ferulic acid in the amelioration of ionizing radiation induced inflammation: a murine model [J]．PLoS One，2014，9(5)：e97599．doi：10.1371/journal.pone.0097599.

[22] SUMAN S，MOON B H，DATTA K，*et al*. Heavy-ion radiation-induced colitis and colorectal carcinogenesis in Il10-/- mice display co-activation of β-catenin and NF-κB signaling [J]．PLoS One，2022，17(12)：e0279771．doi：10.1371/journal.pone.0279771.

[23] PENNISI R，ANTOCCIA A，LEONE S，*et al*. Hsp90α regulates ATM and NBN functions in sensing and

repair of DNA double-strand breaks [J]. FEBS Journal, 2017, 284(15): 2378. doi: 10.1111/febs.14145.
[24] SHIH P C. The role of the STAT3 signaling transduction pathways in radioresistance [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2022, 234: 108118. doi: 10.1016/j.pharmthera.2022.108118.
[25] KRIEGS M, KASTEN-PISULA U, RIECKMANN T, *et al*. The epidermal growth factor receptor modulates DNA double-strand break repair by regulating non-homologous end-joining [J]. DNA Repair (Amst), 2010, 9(8): 889. doi: 10.1016/j.dnarep.2010.05.005.
[26] LIU Z, LEI X, LI X, *et al*. Toll-like receptors and radiation protection [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2018, 22(1): 31. doi: 10.26355/eurrev_201801 _14097.
[27] KOVATS S. Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways [J]. Cellular Immunology, 2015, 294(2): 63. doi: 10.1016/j.cellimm.2015.01.018.
[28] MLADENOVA V, MLADENOV E, STUSCHKE M, *et al*. DNA damage clustering after ionizing radiation and consequences in the processing of chromatin breaks [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2022, 27(5):1540. doi: 10.3390/molecules27051540
[29] HELLWEG C E, SPITTA L F, HENSCHENMACHER B, *et al*. Transcription factors in the cellular response to charged particle exposure31 [J]. Frontiers in Oncology, 2016, 6: 61. doi: 10.3389/fonc.2016.00061.
[30] SHAIN A H, JOSEPH N M, YU R, *et al*. Genomic and transcriptomic analysis reveals incremental disruption of key signaling pathways during melanoma evolution [J]. Cancer Cell, 2018, 34(1): 45. doi: 10.1016/j.ccell.2018.06.005.
[31] WANG J, SHAO W, NIU H, *et al*. Immunomodulatory Effects of Colistin on Macrophages in Rats by Activating the p38/MAPK Pathway [J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10: 729. doi: 10.3389/fphar.2019.00729.
[32] LI D, RUI Y X, GUO S D, *et al*. Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives [J]. Life Sciences, 2021, 284: 119921. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119921.
[33] CHUNG J W, CHOI R J, SEO E K, *et al*. Anti-inflammatory effects of (Z)-ligustilide through suppression of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappaB activation pathways [J]. Archives of Pharmacal Research, 2012, 35(4): 723. doi: 10.1007/s12272-012-0417-z
[34] MANNING B D, TOKER A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network [J]. Cell, 2017, 169(3): 381. doi: 10.1016/j.cell.2017.04.001.
[35] TOULANY M, RODEMANN H P. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling as a key mediator of tumor cell responsiveness to radiation [J]. Seminars in Cancer Biology, 2015, 35: 180. doi: 10.1016/j.semcancer.2015.07.003.
[36] HUANG K, ZHAO W, WANG X, *et al*. Akt Inhibition enhanced the growth inhibition effects of low-dose heavy-ion radiation via the PI3K/Akt/p53 signaling pathway in C6 glioblastoma cells [J]. Frontiers in Oncology, 2021, 11: 649176. doi: 10.3389/fonc.2021.649176.
[37] WANG Y, ZHOU Y, GRAVES D T. FOXO transcription factors: their clinical significance and regulation [J]. BioMed Research International, 2014, 2014: 925350. doi: 10.1155/2014/925350.
[38] PARK S Y, LEE C J, CHOI J H, *et al*. The JAK2/STAT3/CCND2 Axis promotes colorectal Cancer stem cell persistence and radioresistance [J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research,

2019, 38(1): 399. doi: 10.1186/s13046-019-1405-7.

[39] XIE Q, ZHANG L, XIE L, et al. Z-ligustilide: A Review of its Pharmacokinetics and Pharmacology [J]. Phytotherapy Research, 2020, 34 (8): 1966. doi: 10.1002/ptr.6662.

[40] WANG J, JALALI M N, WANG C, et al. D-mannose suppresses oxidative response and blocks phagocytosis in experimental neuroinflammation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2021, 118(44): e2107663118. doi: 10.1073/pnas.2107663118.

[41] XU X L, ZHANG P, SHEN Y H, et al. Mannose prevents acute lung injury through mannose receptor pathway and contributes to regulate PPARγ and TGF-β1 level [J]. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2015, 8(6): 6214.

[42] LIU L, ZHANG C, QU S, et al. ESR1 inhibits ionizing radiation-induced ferroptosis in breast cancer cells via the NEDD4L/CD71 pathway [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2022, 725: 109299. doi: 10.1016/j.abb.2022.109299.

[43] DAS U, MANNA K, KHAN A, et al. Ferulic acid (FA) abrogates γ-radiation induced oxidative stress and DNA damage by up-regulating nuclear translocation of Nrf2 and activation of NHEJ pathway [J]. Free Radical Research, 2017, 51(1): 47. doi: 10.1080/10715762.2016.1267345. 31--43

[44] STANIFORTH V, HUANG W C, ARAVINDARAM K, et al. Ferulic acid, a phenolic phytochemical, inhibits UVB-induced matrix metalloproteinases in mouse skin via posttranslational mechanisms [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2012, 23(5): 443. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.01.009.

[45] CAO J, ZHONG L, FENG Y, et al. Activated beta-catenin signaling ameliorates radiation-induced skin injury by suppressing Marvel D3 expression [J]. Radiation Research, 2021, 195(2): 173. doi: 10.1667/RADE-20-00050.1.

[46] LIU C, ZHANG C, MITCHEL R E, *et al*. A critical role of toll-like receptor 4 (TLR4) and its' in vivo ligands in basal radio-resistance [J]. Cell Death & Disease, 2013, 4(5): e649. doi: 10.1038/cddis.2013.161.

(通讯作者：周利斌 E-mail:libinzhou@impcas.ac.cn)



**作者贡献声明：**

蒲丽、王璐瑶、辛志君和李雪虎：完成文献调研、研究方案、数据采集与分析和论文起草；
曲颖、王洁和吴庆丰：参与数据分析，完成分析结果可视化；
周利斌、王转子和王弋博：提出研究命题，设计研究方案，完成论文审核与修订，提供项目资助。